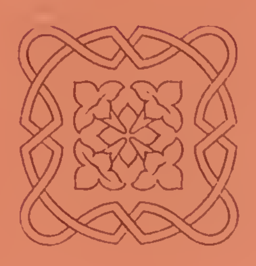
CONSEIL SANITAIRE, MARITIME ET QUARANTENAIRE
D'ÉGYPTE

RAPPORT

SUR

LE DIAGNOSTIC DES VIBRIONS

Par le Dr. Milton CRENDIROPOULO
DIRECTEUR DU LABORATOIRE QUARANTENAIRE D'ALEXANDRIE



ALEXANDRIE
IMPRIMERIES PENASSON ET DE LA BOURSE RÉUNIES
1906

7

CONSEIL SANITAIRE, MARITIME ET QUARANTENAIRE
D'ÉGYPTE

RAPPORT

SUR

LE DIAGNOSTIC DES VIBRIONS

Par le Dr. Milton CRENDIROPOULO
DIRECTEUR DU LABORATOIRE QUARANTENAIRE D'ALEXANDRIE



ALEXANDRIE
IMPRIMERIES PENASSON ET DE LA BOURSE RÉUNIES
1906


LONDON SCHOOL OF
LIBRARY

RAPPORT

SUR

LE DIAGNOSTIC DES VIBRIONS

Par le Dr. Milton CRENDIROPOULO

DIRECTEUR DU LABORATOIRE QUARANTENAIRE D'ALEXANDRIE

MONSIEUR LE PRÉSIDENT,

J'ai l'honneur de vous communiquer mon rapport concernant le diagnostic des vibrions.

J'ai examiné par chacun des procédés connus, en les contrôlant l'un par l'autre, quarante deux vibrions de différentes provenances, dont les détails se trouvent dans le tableau suivant.

Tableau I.

No. d'Ordre	NOM DU VIBRION	ORIGINE ET PROVENANCE
1	C K.	Selles de cholérique isolé pendant l'épidémie d'Alexandrie 1902 (Dr. Kartulis).
2	Aida	Isolé des selles d'une cholérique à Tor pendant l'épidémie 1902 (M. Crendiropoulo).
3	Fatma	» » » » » » »
4	Alioglu	» » » » » » »
5	LXII	Isolé de selles cholériques pendant l'épidémie d'Alexandrie 1902 (Dr. E. Gotschlich).
6	141	Isolé à l'hôpital grec de selles cholériques, Alexandrie 1902 (M. Crendiropoulo).
7	Berlin 70	Dû à l'obligeance du Prof. Gaffky. Institut des maladies infectieuses, Berlin.
8	C V.	Selles cholériques, Alexandrie 1902 (M. Crendiropoulo).
9	98	Isolé de selles dysentériques à Tor 1905 (M. Crendiropoulo).
10	147	» » » » » »

Tableau I (*Suite.*)

No. d'Ordre	NOM DU VIBRION	ORIGINE ET PROVENANCE
11	Berlin 76	Envoyé par le Prof. Gaffky. Institut des maladies infectieuses, Berlin.
12	Machaout	Isolé des selles d'un pneumonique à Tor, épidémie 1902 (M. Crendiropoulo).
13	Tor N. 1	Isolé du contenu de l'intestin d'un dysentérique à Tor 1905 (Dr. F. Gotschlich).
14	V.	Isolé de selles cholériques. Epidémie d'Alexandrie 1902 (Dr. E. Gotschlich.)
15	173	Selles dysentériques à Tor 1905 (M. Crendiropoulo).
16	Berlin 115	Envoyé par le Prof. Gaffky. Inst. m. infectieuses, Berlin.
17	Tor N. 2	Contenu de l'intestin d'un dysentérique, Tor 1905 (Dr. F. Gotschlich).
18	C V A.	Selles cholériques, Alexandrie 1902 (M. Crendiropoulo).
19	IV	Selles cholériques, Alexandrie 1902 (Dr. E. Gotschlich).
20	167	Selles d'un dysentérique, Tor 1905 (M. Crendiropoulo).
21	Tor N. 3	Contenu de l'intestin d'un dysentérique, Tor 1905 (Dr. F. Gotschlich).
22	145	Selles cholériques, Alexandrie 1902 (M. Crendiropoulo).
23	218	Selles d'un dysentérique, Tor 1905 (M. Crendiropoulo).
24	184	» » » » »
25	10	Contenu de l'intestin d'un dysentérique, Tor 1905 (Dr. F. Gotschlich).
26	Tor N. 4	» » » » »
27	Tor N. 5	» » » » »
28	16	» » » » »
29	21	» » » » »
30	23	» » » » »
31	Tor N. 6	» » » » »
32	Calcutta 2	Envoyé de Calcutta (Dr. Rogers, Calcutta).
33	1	Contenu de l'intestin d'un dysentérique, Tor 1905 (Dr. F. Gotschlich).
34	2	» » » » »
35	3	» » » » »

Tableau I (*Suite*).

No. d'Ordre	NOM DU VIBRION	ORIGINE ET PROVENANCE
36	Calcutta 6	Envoyé de Calcutta (Dr. Rogers).
37	Calcutta 8	» » »
38	4	Contenu intestinal d'un dysentérique, Tor 1905 (Dr. F. Gotschlich).
39	5	» » » » »
40	6	» » » » »
41	Mansone	Isolé des eaux de mer en Italie (Dr Zirolia).
42	Agra 11	Selles cholériques, Agra 1906 (Dr. Hankin).

Nous ne parlerons pas de leurs caractères culturaux et morphologiques qui ne présentent que des différences habituelles. Quelques-uns de ces vibrions ont été étudiés à ce point de vue dans un travail publié il y a quelque temps en collaboration avec notre collègue Mademoiselle B. Sheldon Amos; et la plupart des autres sont décrits avec tous les détails voulus dans un excellent travail exécuté par le Dr F. Gotschlich dans le laboratoire de l'Administration, qui est en train de paraître. Tous ces caractères d'ailleurs perdent de jour en jour leur importance au point de vue diagnostique.

Chaque sérum antimicrobien contient plusieurs substances qui agissent spécifiquement et quasi exclusivement sur le microbe avec lequel ce sérum a été préparé. Les principales d'entre elles sont les agglutinines, la bactériolysine et la substance préventive. Chacune d'elles en agissant sur le microbe correspondant donne lieu à des phénomènes divers que les bactériologistes savent déceler par des techniques appropriées. Leur spécificité presque

absolue fait que l'étude de leur action constitue un des moyens de diagnostic les plus sûrs que nous possédons. C'est par ces réactions biologiques que nous sommes efforcés de faire le diagnostic de nos vibrions.

A cet effet nous avons étudié les sérums vibrioniens; 1° au point de vue de leur pouvoir agglutinant vis-à-vis des divers vibrions; 2° au point de vue de leur pouvoir de les transformer en granules, et 3° au point de vue du pouvoir que leur sensibilisatrice possède de se fixer sur nos divers échantillons.

Comme corollaire nous avons cherché à voir si les agglutinines d'un sérum donné, qui agissent sur un vibrion, sont les mêmes que celles qui agissent sur les autres. Il arrive en effet que deux microbes sont agglutinés par le même sérum, mais les substances qui influencent l'un ne sont pas les mêmes que celles qui agglutinent l'autre. Enfin nous avons étudié la production des hémolysines chez nos divers vibrions.

En résumé nous avons appliqué à nos microbes: 1° La réaction de l'agglutination, 2° l'épreuve de la saturation, 3° la réaction de Pfeiffer, 4° la réaction de fixation et 5° la recherche des hémolysines.

Il est bien entendu, que toutes ces réactions ne servent qu'à classer nos vibrions, à relever la parenté qui pourrait exister entre un spécimen et l'autre. Mais ce classement n'implique nullement la spécificité cholérique d'un tel ou tel bacille virgule. Il est vrai qu'on considère comme cholérique tout vibrion qui donne les mêmes réactions biologiques que celui de Hambourg pris par M. Pfeiffer comme type, mais, sans vouloir nous étendre sur cette question, nous croyons que ce choix est arbitraire. Le critérium qui a servi à M. Pfeiffer à cette époque-là n'est plus valable.

Ce savant, avant sa découverte, considérait de nature cholérigène, tout vibrion retiré du contenu intestinal d'un cholérique, *durant une épidémie étendue de choléra.* Mais depuis lors, on en a isolé dans les mêmes circonstances plusieurs qui ne possèdent pas les mêmes caractères et qui ne donnent pas les mêmes réactions. Nous nous demandons donc ce qu'il serait advenu si M. Pfeiffer avait alors à sa disposition un de ces vibrions ou un autre possédant les caractères de celui de Massawa.

Mûs par ces considérations, nous avons écarté de notre travail toute idée de spécificité cholérique. En prenant pour base l'origine de nos échantillons, nous avons examiné les réactions biologiques que chacun d'eux pourrait donner et, en comparant les uns aux autres, nous avons tâché de voir s'il y avait lieu d'en distinguer diverses variétés ou s'il fallait les ranger tous dans la même famille.

Les sérums qui nous ont servi à cette étude sont, d'un côté, un sérum de cheval agglutinant à un haut degré, obligeamment fourni par le Professeur Gaffky, directeur de l'Institut pour les maladies infectieuses de Berlin, et de l'autre, un sérum de lapin agglutinant et bactériolytique préparé dans notre laboratoire avec un microbe qui possède tous les caractères des vibrions dits cholériques (le CK).

I.

Epreuve de l'agglutination.

Cette épreuve a été faite avec les deux sérums. Celui de Berlin, très fortement agglutinant, n'a été essayé que jusqu'au 3000me, titre qui était désigné par l'Institut. Mais il est évident qu'il agglutinait nos microbes à un degré bien plus haut, parce que tous ceux qui réagissaient, donnaient une agglutination complète au 3000me au bout d'une demi-heure à la température du laboratoire. Avec le sérum CK, bien moins agglutinant, on remarque quelques légères différences de degrés entre les divers vibrions. Mais l'action des deux sérums est identique, en ce sens que les microbes qui sont agglutinés par l'un le sont aussi par l'autre.

Le procédé dont nous nous sommes servi était l'usuel. Les cultures sur agar étaient toujours âgées de 18 heures et les dilutions des sérums étaient faites dans la solution de NaCl à 9 p. 1000.

Tableau II.

No. d'Ordre	VIBRIONS	SÉRUM Berlin	SÉRUM C K	No. d'Ordre	VIBRIONS	SÉRUM BERLIN	SÉRUM C K
1	C K	3000	1000 lim.	22	145	3000	500
2	Aïda	3000	1000	23	218	—	—
3	Fatma	3000	1000	24	184	—	—
4	Aliaglu	—	—	25	10	—	—
5	LXVII	—	—	26	Tor N. 4	3000	800
6	141	3000	800	27	Tor N. 5	3 00 lim.	500
7	Berlin 70	3000	1000	28	16	—	—
8	C V	3000	1000	29	21	—	—
9	98	—	—	30	23	—	—
10	147	—	—	31	Tor N. 6	3000	800
11	Berlin 76	3000	800	32	Calcutta 2	—	—
12	Machaout	3000	1000	33	1	—	—
13	Tor N. 1	3000	500 lim.	34	2	—	—
14	V	—	—	35	3	—	—
15	173	—	—	36	Calcutta 6	—	—
16	Berlin 115	2500	1000	37	Calcutta 8	—	—
17	Tor N. 2	3000	500	38	4	—	—
18	C V A	2000	1000	39	5	—	—
19	IV	—	—	40	6	—	—
20	167	—	—	41	Mansone	—	—
21	Tor N. 3	3000	800	42	Agra 11	3000	800

De nos 42 microbes 18 seulement sont agglutinés par un choléra sérum authentique. Parmi ceux-ci onze ont été isolés de selles cholériques, un de selles d'un pneumonique pendant l'épidémie cholérique de 1902 et six du contenu intestinal des dysentériques en dehors de toute manifestation de choléra. Parmi ceux qui ne sont pas

influencés par le choléra-sérum, sont compris 4 retirés de selles cholériques, un isolé de l'eau de mer et seize de selles de pèlerins dysentériques en absence de choléra.

II.

Epreuve de la saturation.

Bordet le premier a remarqué que chaque microbe mis en contact avec un sérum agglutinant, préparé par des injections de ce même microbe dans un animal, absorbe en grande quantité ses agglutinines spécifiques. De sorte qu'on peut par des épuisements successifs, enlever celles-ci en totalité, tout en laissant presque intactes les agglutinines non spécifiques.

Eisenberg et Volk de ce fait ont institué une méthode qui a pour but de séparer les agglutinines spécifiques pour un microbe donné, des agglutinines normales contenues dans un immunserum.

Pour nos expériences nous avons fait usage de la même technique que Messieurs Kolle et Meineke relatent dans leur rapport sur les vibrions de Tor (1). Nous avons pris 10 c.c. d'une dilution au 20me du sérum anticholérique fourni par l'Institut de Berlin, dans lesquels nous avons délayé dix anses de platine d'une culture de GK sur agar, âgée de 18 h. Après les avoir laissées en contact pendant deux heures à la température du laboratoire, nous avons centrifugé le mélange et décanté le liquide clair surnageant. Le pouvoir agglutinant de ce liquide décanté fut alors essayé sur tous les vibrions de notre collection,

(1) *Bulletin Quarantenaire* Nos. 276 et 277, 1906.

agglutinés par le sérum. Concurramment à cette épreuve et à titre de contrôle nous essayions le pouvoir agglutinant du même sérum non saturé.

Tableau III.

No. d'Ordre	VIBRIONS	SÉRUM non saturé	SÉRUM SATURÉ	No. d'Ordre	VIBRIONS	SÉRUM NON SATURÉ	SÉRUM saturé
1	C K.	3000	250 lim.	11	Tor N. 2	3000	250
2	Aïda	3000	250	12	C V A.	2000	100
3	Fatma	3000	250	13	Tor N. 3	3000	300
4	141	3000	500	14	145	3000	500
5	Berlin 70	3000	300	15	Tor N. 4	3000	250
6	C V.	3000	300	16	Tor N. 5	3000	250
7	Berlin 76	3000	500	17	Tor N. 6	3000	250
8	Machaout	3000	500	18	Agra 11	3000	250
9	Tor N. 1	3000	300	19			
10	Berlin 115	2500	250	20			

Dans le tableau précédent ne sont inclus naturellement que les seuls microbes qui donnent la réaction. L'identité des agglutinines qui influencent nos microbes y est manifeste.

III.

Phénomène de Pfeiffer

Il nous était difficile, avec le nombre des microbes que nous avions en étude, d'essayer cette épreuve sur les cobaya. La quantité énorme d'animaux qui nous aurait été nécessaire et, surtout, l'existence dans notre collection de vibrions complètement avirulents, rendait une telle expérimentation impossible.

Metchnikoff a vu qu'il suffit de retirer un goutte de lymphe péritonéale à un cobaye qui n'a subi aucune injection préalable, ou une simple injection de bouillon et d'y ajouter un peu de vibrions et de sérum préventif pour que le phénomène de Pfeiffer se produise de la façon la plus typique. Bordet remplace la lymphe péritonéale par le sérum de cobaye. Voici comment cet auteur en décrit la technique. Nous la transcrivons in extenso parce que c'est elle que nous avons suivie.

« On prend une culture jeune (24 h.) du vibrion à exa-
« miner. On la délaie dans 5 à 7 c.c. de bouillon ou d'eau
« physiologique. On laisse tomber d'une pipette effilée sur
« une lame ou un verre de montre, deux gouttes de cette
« émulsion, on y ajoute une goutte de sérum préventif
« (nous admettons pour fixer les idées qu'on possède un
« choléra-sérum aussi actif que le nôtre). Cette dose est
« d'ailleurs beaucoup plus forte qu'il n'est nécessaire,
« mais il faut prévoir le cas où l'on se trouverait en pré-
« sence de vibrions exceptionnellement résistants. On mé-
« lange et l'on prend au moyen d'une anse une goutte
« qu'on dépose sur une lamelle. On prend de même,
« après avoir flambé le fil de platine, une gouttelette de
« sérum neuf bien frais (de sang défibriné, on pourrait
« même se servir d'une goutte de sang humain), on la
« place à côté de la première, on mélange ensuite inti-
« mement les deux gouttelettes, et on place la lamelle
« retournée sur une lame à godet ; les bords de la cavité
« sont enduits de vaseline et la goutte suspendue se
« trouve ainsi en chambre humide. On place à l'étuve
« pendant 2 heures, temps largement suffisant pour la
« transformation en granules ».

Bordet recommande le sérum frais de cobaye parce qu'il est plus actif que celui du lapin et de la chèvre. Il insiste en outre sur la préparation indispensable de deux témoins, l'un fait avec un vibrion typique se transformant sûrement en granules en présence du sérum actif, et l'autre préparé sans sérum préventif pour voir si le vibrion en question ne subit la transformation dans le sérum neuf seul sans le concours du choléra-sérum. Il examine les préparations à l'état frais ou les colore par un contact prolongé avec la solution colorante, les granules prenant mal la couleur.

Dans nos expériences, au lieu du sérum neuf de cobaye nous nous sommes servi de la lymphe péritoniale du même animal. Nous injections 3-4 c.-c. de bouillon dans le péritoine d'un cobaye neuf et 4 heures après, nous retirions le liquide trouble et rempli de leucocytes que nous laissions à la glacière jusqu'au lendemain. Le sérum qui nous a servi était le sérum C K. La transformation en granules était presque totale pour tous les vibrions qui donnaient la réaction, et l'aspect des préparations tranchait très nettement avec celui des témoins par l'absence de granules chez ces derniers.

Tableau IV.

No. d'Ordre	VIBRIONS	RÉSULTAT	No. d'Ordre	VIBRIONS	RÉSULTAT
1	C K	+	22	145	+
2	Aïda	+	23	218	—
3	Fatma	+	24	184	—
4	Alioglu	—	25	10	—
5	LXVII	—	26	Tor N. 4	+
6	141	+	27	Tor N. 5	+
7	Berlin 70	+	28	16	—
8	C V	+	29	21	—
9	98	—	30	23	—
10	147	—	31	Tor N. 6	+
11	Berlin 76	+	32	Calcutta 2	—
12	Machaout	+	33	1	—
13	Tor N. 1	+	34	2	—
14	V	—	35	3	—
15	173	—	36	Calcutta 6	—
16	Berlin 115	+	37	Calcutta 8	—
17	Tor N. 2	+	38	4	—
18	C V A	+	39	5	—
19	IV	—	40	6	—
20	167	—	41	Mansone	—
21	Tor N. 3	+	42	Agra 11	+

Si l'on compare le tableau II à celui-ci on verra que les mêmes microbes qui donnent l'agglutination présentent aussi le phénomène de Pfeiffer. Cette règle paraît jusqu'à présent générale en ce qui concerne les vibrions.

IV.

Epreuve de fixation.

Lorsqu'on mélange un sérum spécifiquement hémolytique pour les globules d'une espèce animale, avec les mêmes globules lavés, ceux-ci absorbent énergiquement la sensibilisatrice en dépouillant le liquide ambiant. D'autre part, un sérum neuf c.a.d. une alexine, qui ne s'unit pas aux globules rouges dans les circonstances normales, se fixe à ces hématies quand elles ont subi préalablement l'action de la sensibilisatrice. Ces faits ont été expérimentalement démontrés pour la première fois par MM. Ehrlich et Morgenroth. Il en est de même s'il s'agit de microbes.

Bordet de son côté a établi que si l'on mélange à du sérum neuf non chauffé des globules ou des microbes impressionnés par la sensibilisatrice appropriée, ces éléments absorbent l'alexine et la font disparaître du liquide.

Si d'après ces données, on mélange à du sérum neuf de cobaye des vibrions cholériques n'ayant subi aucune action de choléra sérum, ils n'absorberont pas l'alexine qui reste libre dans le liquide. La preuve en est que si dans un pareil mélange on introduit des globules sensibilisés, ils sont détruits avec rapidité. Quand on ajoute, en revanche, à la même quantité de sérum neuf, des vibrions, non plus normaux, mais impressionnés par la sensibilisatrice cholérique, ceux-ci absorberont l'alexine, et si la dose du sérum neuf n'est pas trop forte, celui-ci en sera complètement dépouillé, de sorte que les globules sensibilisés introduits ultérieurement resteront intacts.

Tels sont les faits fondamentaux qui ont été le point de départ de la méthode que Bordet et Gengou ont instituée pour la recherche de la sensibilisatrice dans un sérum donné. L'application de cette épreuve a été faite par différents expérimentateurs, sur des sérums provenant de plu-

sieurs espèces microbiennes, mais elle n'a pas encore été, que nous sachions, systématiquement faite sur les vibrions, malgré que ces microbes aient servi pour les premières expériences.

La technique que nous avons suivie est celle de Bordet et Gengou contrôlée par celle de Dopter qui n'en est qu'une légère modification.

Procédé de Bordet et Gengou. — Nous chauffions l'immunserum à 56° pendant une demi-heure en même temps que du sérum neuf de lapin, animal duquel provenait notre sérum préventif. Une culture sur gélose du microbe à essayer âgée de 18 h. était délayée dans 2 c. c. d'eau physiologique afin d'obtenir une émulsion riche en microbes. Comme alexine nous disposions d'un sérum bien débarrassé de globules par centrifugation et provenant du lapin qui avait été saigné la veille. Avec ces réactifs nous préparions les mélanges suivants : 1° $^2/_{10}$ c. c. d'émulsion microbienne, $^6/_{10}$ c. c. d'immunserum et $^1/_{10}$ c. c. d'alexine : 2° $^2/_{10}$ c.c d'émulsion microbienne, $^6/_{10}$ c. c. de sérum neuf chauffé et $^1/_{10}$ c. c. d'alexine : 3° le même mélange que dans le tube 1. Nous laissions le tout reposer pendant 4--5 h. à la température du laboratoire en ayant soin d'agiter de temps en temps pour assurer l'intimité du mélange. Nous introduisions alors dans les tubes 1 et 2 une goutte d'un mélange constitué par deux vol. de sérum chauffé hémolytique pour les globules de bœuf et un vol. de globules lavés du même animal. Dans le tube 3 nous ajoutions une goutte d'un mélange de deux volumes d'eau physiologique et un des mêmes globules non sensibilisés. Au bout d'une à 3 h. nous examinions les tubes et notions ceux dans lesquels il y avait hémolyse. Quand il s'agissait des vibrions qui fixaient la sensibilisatrice, le tube témoin N° 2 présentait une hémolyse très apparente au bout de deux

heures, tandis que les autres n'en montraient pas la moindre trace. Dans le tube 3, l'hémolyse n'arrivait qu'au bout de 12 à 18 h. quand il s'agissait des microbes fortement hémolytiques; avec des microbes non hémolysants elle n'avait point lieu.

Procédé de Dopter — Nous introduisions dans 5 tubes les mélanges suivants:

1° 20 gouttes d'immunsérum chauffé à 56°, 3 gouttes d'alexine, 6 gouttes d'une épaisse émulsion de microbes.

2° 20 gouttes d'immunsérum, 4 gouttes d'alexine, 6 gouttes de l'émulsion microbienne.

3° 20 gouttes d'immunsérum, 5 gouttes d'alexine, 6 gouttes de l'émulsion microbienne.

4° 20 gouttes de sérum neuf de lapin chauffé à 56°, 3 gouttes d'alexine, 6 gouttes d'émulsion.

5° 20 gouttes de sérum neuf de lapin chauffé à 56°, 5 gouttes d'alexine, 6 gouttes d'émulsion.

Au bout de 4--5 h. de repos à la température du labóratoire nous introduisions dans chaque tube 2 gouttes de globules sensibilisés.

Cette dernière méthode nous a permis de voir chez quelques-uns de nos spécimens la diminution graduelle de leur aptitude à fixer la sensibilisatrice.

Le sérum qui nous a servi pour ces expériences est le CK.

On verra dans le tableau suivant que la concordance qui existe entre l'agglutination et la transformation en granules n'existe plus quand il s'agit de la réaction de fixation. Parmi les 24 vibrions qui ne sont pas agglutinés, 14 fixent la sensibilisatrice du choléra sérum, c.a.d., qu'ils possèdent des récepteurs communs avec les vibrions dits cholériques. En revanche, 6 qui subissent la transformation en granules ainsi que l'agglutination, ne fixent pas la sensibilisatrice. Nous examinerons ce fait avec plus de détails dans le chapitre des considérations générales.

Tableau V.

No. d'Ordre	VIBRIONS	M. Bordet	M. Dopter	No. d'Ordre	VIBRIONS	M. Bordet	M. Dopter
1	C K.	+	+	22	145	+	+
2	Aïda	+	+	23	218	—	—
3	Fatma	+	+	24	184	+	+
4	Alioglu	—	—	25	10	+	+
5	LXII	—	—	26	Tor N. 4	—	—
6	141	+	+	27	Tor N. 5	—	—
7	Berlin 70	+	+	28	16	+	+
8	C V.	+	+	29	21	+	+
9	98	—	—	30	23	+	+
10	147	+	+	31	Tor N. 6	—	—
11	Berlin 76	+	+	32	Calcutta 6	+	+
12	Machaout	+	+	33	1	—	—
13	Tor N. 1	—	—	34	2	—	—
14	V	—	—*	35	3	—	—.
15	173	+	+	36	Calcutta 6	+	+
16	Berlin 115	+	+	37	Calcutta 8	+	+
17	Tor N. 2	—	—	38	4	+	+
18	C V A	+	+	39	5	+	+
19	IV	+	+**	40	6	+	+
20	167	—	—	41	Mansone	—	—
21	Tor N. 3	—	—	42	Agra 11	+	+

Le signe + signifie que le microbe fixe la sensibilisatrice et ne donne par conséquent pas d'hémolyse.

* Ce vibrion fixe très peu la sensibilisatrice; le 1er tube seul qui contient le moins d'alexine ne donne pas d'hémolyse.

** Ce vibrion commence à perdre la propriété de fixer la sensibilisatrice. Le 3me tube donne déjà une légère hémolyse.

V.

Pouvoir hémolytique des vibrions.

Kraus ayant constaté que certains vibrions détruisent les globules sanguins, il a étendu ses recherches qui l'ont amené à penser que tout vibrion qui donne des hémolysines n'est pas cholérique. Le procédé qu'il a imaginé pour cette recherche est le suivant : Il liquéfie de l'agar dans des tubes, le laisse refroidir à 40° et ajoute dans chaque tube 0,3—05 c.c. de sang défibriné de lapin, qu'il mélange doucement mais uniformément à l'agar. Il le coule dans des boîtes de Petri, le laisse prendre par refroidissement et l'ensemence avec une culture du vibrion à examiner, de façon à avoir des colonies séparées. Après 24 h. d'étuve, les colonies formées présentent, si le vibrion est hémolytique, une auréole claire plus ou moins étendue qui tranche sur la couleur foncée et opaque du reste de l'agar.

Nous avons plusieurs fois répété ces expériences et le procédé s'est montré, entre nos mains, inconstant dans ses résultats et délicat à l'observation. Aussi nous avons eu recours à un procédé plus simple, qui nous a toujours montré clairement la moindre trace d'hémolyse. Nous délayions une culture sur agar, âgée de 18 h., dans 3—4 c. c. de solution physiologique de NaCl. Nous introduisions 0,1 c.c. de cette émulsion dans un tube qui contenait déjà 0,9 c.c. de solution physiologique, et nous ajoutions une grosse goutte des globules lavés, ou simplement du sang défibriné de lapin ou de tout autre animal. Nous laissions à la température du laboratoire et nous observions à différents intervalles. Ordinairement au bout de 12 à 18 h. l'homolyse était manifeste, mais quelque fois il fallait pro-

longer l'observation jusqu'à 48 h. pour la voir apparaître. Si après ce laps de temps elle faisait défaut, toute observation ultérieure devenait inutile, on avait affaire à des vibrions non hémolysants. Par ce procédé nous avons essayé le pouvoir hémolysant de nos vibrions sur les hématies du lapin, du bœuf, de la chèvre, du mouton et du cobaye; toutes étaient détruites. Les hémolysines vibrioniennes ne sont donc pas spécifiques.

Nous avons aussi voulu voir si les sérums antimicrobiques préparés avec des vibrions hémolysants ou non empêchent la production des hémolysines. Mais plusieurs expériences, que nous croyons inutile de rapporter, nous ont assuré qu'ils ne possèdent aucune action inhibitrice sur cette fonction. Seuls les sérums antitoxiques ont, selon Krauss, un pareil pouvoir.

Au premier abord le pouvoir hémolytique de nos microbes paraît n'avoir aucune relation avec les autres réactions. En effet plusieurs vibrions qui agglutinent, produisent aussi des hémolysines. Mais si l'on jette un coup d'œil sur le tableau VII qui récapitule tous les caractères de nos microbes, on verra qu'aucun des vibrions, qui donnent les trois réactions au complet, ne détruit les globules. Pour qu'il acquière cette propriété il faut qu'il entre en voie de dégénérescence, c. à. d. qu'il commence à perdre un ou plusieurs de ses attributs.

Tableau VI.

No. d'Ordre	VIBRIONS	RÉSULTAT	No. d'Ordre	VIBRIONS	RÉSULTAT
1	C K	—	22	145	—
2	Aïda	—	23	218	+
3	Fatma	—	24	184	+ après 48 h.
4	Alioglu	+	25	10	+ légère après 48 h.
5	LXII	+	26	Tor N. 4	+
6	141	—	27	Tor N. 5	+
7	Berlin 70	—	28	19	+ légère après 48 h.
8	C V	—	29	21	+ » » »
9	98	+	30	23	+ » » »
10	147	+ légère après 48 h.	31	Tor N. 6	+
11	Berlin 76	—	32	Calcutta 2	+ après 48 h.
12	Machaout	—	33	1	+
13	Tor N. 1	+	34	2	+
14	V	+	35	3	+ très légère après 48 h
15	173	+ très légère	36	Calcutta 6	+ après 48 h.
16	Berlin 115	—	37	Calcutta 8	+ » »
17	Tor N. 2	+	38	4	+ très légère
18	C V A	—	39	5	+ » »
19	IV	+	40	6	+ » »
20	167	+	41	Mansone	+
21	Tor N 3	+	42	Agra 11	—

VI.

Récapitulation et considérations générales.

Si nous résumons nos observations en un tableau général, il est aisé de voir que nos vibrions peuvent se diviser en quatre groupes :

1° Ceux qui donnent lieu avec un immun-sérum aux trois réactions principales : l'agglutination, le phénomène de Pfeiffer et la réaction de la fixation. Ceux-ci sont des vibrions complets. Ils ne donnent aucune hémolyse même s'ils restent en présence des globules pendant trois jours à la température du laboratoire.

2° Un second groupe comprend les vibrions, qui sous l'influence du sérum s'agglutinent, et se transforment en granules mais ne donnent pas lieu à la réaction de la fixation. Ils détruisent fortement les globules sanguins. Ce groupe est entièrement formé de six vibrions de Tor.

3° Le troisième groupe est constitué par les vibrions qui ne sont pas agglutinés par le sérum, ne donnent pas le phénomène de Pfeiffer mais qui fixent la sensibilisatrice. Ces vibrions hémolysent aussi, mais la plupart d'entre eux donnent une hémolyse légère et tardive, quelquefois il faut attendre 36 et 48 h. pour voir le phénomène se produire.

4° Et enfin le quatrième et dernier groupe se compose de ces vibrions qui ne donnent aucune des réactions précitées. Ils sont fortement hémolysants.

Tableau VII.

No. d'Ordre	VIBRIONS	Agglutination	R. de Pfeiffer	R. de fixation	HÉMOLYSE
1	C K.	+	+	+	—
2	Aïda	+	+	+	—
3	Fatma	+	+	+	—
4	Alioglu	—	—	—	+
5	LXII	—	—	—	+
6	141	+	+	+	—
7	Berlin 70	+	+	+	—
8	C V.	+	+	+	—
9	98	—	—	—	+
10	147	—	—	+	+
11	Berlin 76	+	+	+	—
12	Machaout	+	+	+	—
13	Tor N. 1	+	+	—	+
14	V	—	—	—	+
15	173	—	—	+	+
16	Berlin 115	+	+	+	—
17	Tor N. 2	+	+	—	+
18	C V A	+	+	+	—
19	IV	—	—	+	+
20	167	—	—	—	+
21	Tor N. 3	+	+	—	+
22	145	+	+	+	—
23	218	—	—	—	+
24	181	—	—	+	+
25	10	—	—	+	+
26	Tor N. 4	+	+	—	+
27	Tor N. 5	+	+	—	+
28	16	—	—	+	+

Tableau VII (*suite*)

No. d'Ordre	VIBRIONS	Agglutination	R. Pfeiffer	R. de fixation	Hémolyse
29	21	—	—	+	+
30	23	—	—	+	+
31	Tor N. 6	+	+	—	+
32	Calcutta 2	—	—	+	+
33	1	—	—	—	+
34	2	—	—	—	+
35	3	—	—	—	+
36	Calcutta 6	—	—	+	+
37	Calcutta 8	—	—	+	+
38	4	—	—	+	+
39	5	—	—	+	+
40	6	—	—	+	+
41	Mansone	—	—	—	+
42	Agra 11	+	+	+	—

Mais cette division en groupes n'implique pas la diversité de famille. Si nous examinons la question de plus près nous voyons qu'entre tous ces vibrions existent des liens de parenté assez forts qui ne nous permettent pas cette distinction. Prenons, par exemple, les deux premiers groupes. Tous les vibrions qui y appartiennent donnent lieu au phénomène du Pfeiffer, sont agglutinés par le même sérum à un degré également élevé et leurs agglutinines sont identiques, comme l'épreuve de la saturation nous l'a démontré. Ceci à tel point, que les auteurs qui ne prennent en considération que ces deux réactions, les rangent dans le même groupe. D'un autre côté les vibrions du premier et troisième groupe ont la faculté de fixer la

même sensibilisatrice. Il est impossible de nier qu'entre ces deux groupes aussi, il existe une identité d'action qui comble le fossé de leur séparation.

Si les microbes du dernier groupe ont perdu la faculté de donner sous l'influence du sérum les trois réactions que nous considérons comme essentielles, ils ont gardé néanmoins une fonction qu'ils partagent avec ceux du deuxième et troisième groupe, celle de produire des hémolysines absolument identiques, en ce sens qu'elles sont neutralisées par les antitoxines de six vibrions de Tor. Tel est du moins le sens de la lettre de Mr. Krauss que le délégué d'Autriche-Hongrie auprès du Conseil supérieur de Constantinople, a communiqué dans la séance du dit Conseil tenue le 6 Mars 1905. « Je crois, dit M. Krauss, que « la solution de la question des vibrions a été trouvée. « J'ai continué mes recherches dans le sens déjà indiqué « et je suis arrivé à des résultats qui apportent l'éclair- « cissement voulu. M. le Dr. Ruffer a eu l'obligeance de « m'envoyer les 30 vibrions non spécifiques d'El-Tor et « sur tous ces vibrions ma supposition a été confirmée. « Tous les 30 vibrions d'El-Tor produisent hémolisynes « et toxines, ils ne donnent ni la réaction de Pfeiffer avec « un choléra-sérum, ni l'agglutination. Ils diffèrent au « point de vue cultural et biologique du vibrion Koch et « de six vibrions de Tor; mais ainsi que l'ont démontré les « expériences ultérieures, ils sont identiques aux vibrions « d'El-Tor par la production d'hémolysines et de toxines. « L'antitoxine produite par les six xibrions spécifiques « d'El-Tor neutralise l'hemolysine et la toxine des vi- « brions non spécifiques ».

Ainsi, malgré la différence qu'ils présentent dans leurs caractères, tous nos vibrions, celui de Mansone probablement excepté, paraissent être identiques d'origine. Les ag-

glutinines, les bactériolysines et les diverses substances des immunsérums sont indépendantes les unes des autres. Il se peut que chaque microbe puisse perdre la faculté de produire l'une ou plusieurs d'entre elles, en même temps qu'il acquiert quelques propriétés nouvelles. Ceci n'est pas une simple vue d'esprit ; divers faits plusieurs fois constatés le prouvent. En laissant de côté la perte de la virulence si constamment observée, nous mentionnerons le fait de la perte de l'agglutination des microbes par les passages successifs à travers l'organisme animal. Ce fait a été fréquemment observé pour le bacille typhique et Sacquépée a pu enlever expérimentalement presqu'en totalité l'agglutinabilité d'un échantillon primitivement très agglutinable. Ceci peut arriver sans passage par l'animal. Notre collègue le Dr. Zirolia nous a rapporté le fait d'un vibrion qui, agglutiné par le choléra-sérum au début de son isolement de l'eau d'approvisionnement d'un bateau, a perdu petit à petit toute son agglutinabilité.

A ce propos je me permettrai de citer la lettre que le Dr Hankin, Directeur du laboratoire d'Agra (Indes), vous a adressée et que vous avez bien voulu me communiquer. « Il ne faut pas se contenter d'un seul essai de séro-réac- « tion avec la première culture après l'isolement du mi- « crobe. Il faut en faire d'autres avec des cultures « ultérieures. J'ai eu l'expérience de la différence que « les diverses cultures peuvent présenter, pendant une « épidémie cholérique à Tundla, village près d'Agra. Une « femme souffrant de diarrhée s'est suicidée en se jetant « dans un puits. Une épidémie a éclaté parmi les gens « qui faisaient usage de son eau, dans laquelle, il n'a été « décelé qu'un seul vibrion non agglutinant. Le puits « après a été bien desinfecté. Parmi les 80 selles ramas- « sées dans le village et examinées il n'a été trouvé que

« 15 vibrions. 4 de ceux-ci agglutinaient très légère-
« ment et doivent être mis à l'écart. Les 11 restants
« étaient très fortement agglutinés par le sérum ainsi
« qu'un vibrion isolé des selles cholériques. Mais ceci
« était vrai pour les premières cultures. Dans les
« cultures ultérieures, 9 parmi les 11 vibrions ont com-
« plètement perdu la faculté de réagir au sérum. En
« essayant le second passage j'ai fait des observations de
« contrôle avec les cultures originelles qui continuaient à
« réagir, ce qui prouve que la cause ne résidait pas dans
« le sérum. Les cultures successives gardaient toutes les
« apparences de vibrions. Les observations étant très nom-
« breuses, toute question d'impureté doit être exclue. Mon
« opinion personnelle et hétérodoxe est qu'un vibrion peut
« acquérir temporairement les caractères d'un vibrion
« cholérique et causer une épidémie. Dans la circonstance
« présente l'épidémie a cessé après quelques jours, par-
« ceque, je pense, le vibrion a repris rapidement sa forme
« non pathogène... »

Les conclusions auxquelles nous devons nous arrêter pour le moment et qui découlent de nos expériences sont les suivantes :

1° Pour classer un vibrion il faut essayer sur lui toutes les réactions biologiques connues, sans exception. L'agglutination et le phénomène de Pfeiffer, tout en restant des caractères essentiels, ne suffisent pas à eux seuls à l'identification d'un vibrion.

2° L'épreuve des hémolysines a une réelle valeur pour le diagnostic de la dégénérescence d'un vibrion. Aucun de nos specimens qui possède la faculté de réagir au complet n'a donné la moindre trace d'hémolyse. En revanche, tous ceux qui présentent un signe de dégénérescence quelconque, ont détruit plus ou moins tardivement les globules. Dans ce sens, l'énoncé de Krauss est vrai.

Veuillez agréer, Monsieur le Président, l'expression de ma gratitude pour toutes les facilités que vous m'avez procurées pendant l'exécution du présent travail et les conseils que vous avez bien voulu me donner.

Le Directeur du Laboratoire Bactériologique,

D. Crendiropoulo.

